Lane Medical Library

1902

Die Einwirkung einiger Antiseptika (Calciumhydroxyd, Natriumarsenit und Phenol) auf alkoholische Gärung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

vorgelegt von

Christian Knoesel

aus Nürnberg.

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Februar 1900.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1902.

Die Einwirkung einiger Antiseptika (Calciumhydroxyd, Natriumarsenit und Phenol) auf alkoholische Gärung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

vorgelegt von

Christian Knoesel

aus Nürnberg.

Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1902.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153716_0355

Seiner lieben Mutter

und dem

Andenken seines teuren Vaters

in

Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

vom Verfasser.

In der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. Jahrg. 1893. p. 151 u. f. und Jahrg. 1894. p. 53 u. f. veröffentlicht H. Will eine Arbeit über die Wirkung einiger Desinfektionsmittel auf Hefe. Diese Arbeit zerfällt in 3 Versuchsreihen; die erste betrifft die Wirkung von Desinfektionsmitteln auf untergärige Bierhefe, in der zweiten wurden die bei den Versuchen der ersten Reihe als besonders kräftig erkannten Desinfektionsmittel in ihrer Wirkung auf wilde Hefe und Mycoderma geprüft, während in der dritten Reihe dieselben Desinfektionsmittel in Mengen, welche zur Tötung der verschiedenen Hefen in vegetativem Zustande erforderlich waren, gegenüber den Sporen der Kulturhefen und wilden Hefen zur Anwendung kamen.

Um bei den Versuchen jedesmal die gleiche Menge Hefe mit dem gleichen Feuchtigkeitsgehalt verwenden zu können, wurde den Hefen auf sterilen Gipsblöcken das Wasser möglichst vollkommen entzogen. Von der so getrockneten Hefe verwendete Will zu seinen Versuchen jedesmal 5 g. Diese wurden mit 50 ccm des gelösten Desinfektionsmittels 20 Sekunden bis 30 Minuten geschüttelt und alsdann in 2—3 l Wasser zur Entfernung des Desinfektionsmittels eingegossen. Die Hefe wurde durch Filtration gesammelt und wiederum auf Gipsblöcken getrocknet. Von der abgetrockneten Hefe wurde je 1 g unter möglichstem Ansschluß von Verunreinigung abgewogen und in sterile Nährflüssigkeit zur Bestimmung der Gärkraft gegeben. Nach Verlauf von 6 Stunden wurde die entwickelte Kohlensäuremenge festgestellt und aus dieser die Gärkraft berechnet. In solchen Versuchsreihen, bei welchen nach 6 Stunden bei 30 ° C eine Kohlensäureentwickelung nicht stattgefunden hatte, blieben die Gärkölbchen bei der gleichen Temperatur noch mehrere Tage stehen und wurden wiederholt nach dem Durchsaugen von Luft gewogen. Die Ergebnisse seiner Versuche stellte H. Will in einer Tabelle zusammen, welcher die nachstehenden Resultate entnommen sind:

1) Sublimat 1 $^0/_{00}$
2) Chlorkalklösung (0,2 Proz. akt. Chor),
3) Javelle'sche Lauge (0,2 Proz. akt. Chlor),
4) Doppelschwefligsaurer Kalk (4,0 g SO_2 pr. l),
5) Sauer reagierendes Wismuthnitrat (5 Proz.),

6) Kaliumpermanganat (0,8 Proz.),
7) Alkoholische Salicylsäurelösung (5 Proz.),
8) Kreolin (3 Proz.).

Die beiden geprüften wilden Hefearten und Mycoderma verhielten sich den angewandten Desinfektionsmitteln gegenüber nahezu gleich. Hingegen ergaben sich bei der Prüfung der Sporen Unterschiede bei den einzelnen Sporen der gleichen Hefeart und zwischen den Sporen der Kulturhefen und wilden Hefen. Letztere erwiesen sich widerstandsfähiger als erstere.

Ueber das Verhalten von Salicylsäure, Karbolsäure, Benzoësäure und Zimmtsäure gegenüber Hefe liegen Untersuchungen von H. Fleck[1]) vor.

Fleck bestätigt in seiner Arbeit, daß Salicylsäure, Karbolsäure u. s. w. keine Hefegifte sind. Dieser Meinung kann ich mich, soweit es die Karbolsäure betrifft, durchaus nicht anschließen, denn meine Versuche mit Phenol haben gerade das Gegenteil bewiesen. Die Einwirkung der Hydroxylderivate des Benzols auf Hefe haben auch Biernacki und K. Yabe untersucht. Keiner von beiden stellt die Behauptung auf, daß Karbolsäure oder Salicylsäure keine Hefegifte wären. Biernacki[2]) beweist durch seine Versuche, daß die antiseptische Kraft der Hefegifte in einem gewissen Zusammenhange mit dem Gehalt an Hydroxylen (OH) zu stehen scheint. Er sagt: je mehr das Mittel OH enthält, desto schwächer ist es (betreffs seiner minimalen Dosis), wobei ein OH das Mittel zweimal schwächt. So hebt Phenylsäure mit einem OH die Hefegärung unter gewissen Bedingungen bei 1:200, Resorcin mit 2 OH bei 1:100, Pyrogallol mit 3 OH bei 1:50 auf. Dasselbe findet bei Benzoësäure und Salicylsäure statt; die letztere enthält der ersteren gegenüber 1 OH und ist auch 2mal schwächer. Resorcin mit 2 OH ist 2mal und Pyrogallol mit 3 OH 4mal schwächer als Karbol.

K. Yabe[3]) bestätigte durch seine Versuche das von Biernacki Gesagte. Jäger[4]) hat die Einwirkung von Kalkmilch auf Rosahefe geprüft; indem er mit reinkultivierter Hefe imprägnierte Seidenfäden auf Bretter befestigte und mit Kalkmilch (1 Teil Kalk auf 2 Teile Wasser) 1-, 2- und 3mal überstrich. Nach dem 2maligen Anstrich war eine völlig sichere Abtötung erreicht worden.

Weitere und ausführlichere Angaben über die desinfizierende Wirkung von gelöschtem Kalk auf Hefe macht L. Steuber[5]) in den Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Die Versuche wurden von ihm in folgender Weise durchgeführt: Etwa $^1/_2$ g feuchte Hefe, die vorher in Hefezuckerwasser frisch hergeführt worden war, wurde in ein steriles Reagenzgläschen gebracht,

1) Flek H., Benzoësäure, Karbolsäure, Salicylsäure, Zimmtsäure. Vergleichende Versuche zur Feststellung des Wertes der Salicylsäure als Desinfektionsmittel, insbesondere als Pilz- und Hefegift. München (R. Oldenbourg) 1875. p. 53.
2) Pflüger's Archiv. 1891.
3) Chem. Centralblatt. 1894. Bd. II. p. 1048.
4) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. V. Heft 2.
5) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. Jahrg. XIX. p. 41.

hierzu 10 ccm Kalkmilch gegeben, mit steriler Kautschuckkappe verschlossen, fest durchgeschüttelt und der Kalk verschiedene Zeiten 10, 20, 30, 40 Minuten auf die Hefe einwirken lassen. Nach dieser Zeit wurde Kohlensäure eingeleitet, um den Aetzkalk unschädlich zu machen. Sobald eine herausgenommene Probe des Kalkhefebreis Curcumapapier nicht mehr braun färbte, wurde der gesamte Kalkhefebrei in große mit 14-proz. steriler Würze gefüllte Pasteurkolben gegeben. Die mikroskopische Untersuchung der mit dem Kalk behandelten Hefe ergab, daß der Kalk die Hefe sehr geschwächt hatte, soweit sich das überhaupt entscheiden ließ, da die einzelnen Zellen vollständig von dem niedergeschlagenen kohlensauren Kalk eingeschlossen waren.

Die mit dem Kalkhefebrei infizierten Kolben blieben 8 Tage im Thermostaten bei 25° C stehen, hierauf wurde die Flüssigkeit von dem Kalkhefesatz abgegossen und letzterer untersucht — die Hefe war tot; jedoch war in einigen Kolben die Würze alkalisch geworden infolge unvollständiger Fällung des Kalkes durch die Kohlensäure.

Da nach Hayduck und Meissner[1]) die Gärthätigkeit der Hefe durch einen Milchsäuregehalt von 0,2=1 Proz. gefördert, erst durch einen Milchsäuregehalt von 2,5 Proz. geschädigt wird, so wurde, um den Kalk vollständig und rascher als durch Einleiten von Kohlensäure unschädlich zu machen, Milchsäure der Würze zugesetzt. Es mußte natürlich darauf geachtet werden, daß der Ueberschuß an Milchsäure kein allzu großer war.

Es wurden deshalb die Versuchsbedingungen dahin geändert, daß der Kalkhefebrei direkt in halbgefüllte Pasteur-Kolben gebracht wurde, welche mit Milchsäure versetzt und sterilisiert waren, und deren Milchsäuregehalt so gestellt war, daß nach dem Einbringen des Kalkhefebreies in die Würze und kräftigem Schütteln derselben die Würze noch sauer reagierte.

Die angewandte Kalkmilch war von verschiedener Stärke:
a) 11,2 Kalkhydrat, b) 31,3 Proz., c) 26,6 Proz., d) 43,0 Proz.

Aus der im Original enthaltenen Tabelle ist ersichtlich, daß bei sämtlichen Versuchen bei einer Einwirkungsdauer von 10 Min. bis 2 Stunden binnen kurzer Zeit Gärung und Hefeentwickelung eingetreten war. Die Hefe ist also durch den Aetzkalk nicht getötet worden.

Kontrollehalber wurde nun ein Versuch gemacht, bei dem der Kalk nicht durch Milchsäure neutralisiert wurde. Nach verschiedenen Einwirkungszeiten des Kalkes auf die Hefe wurde der Kalkhefebrei in mit gewöhnlicher Würze von 0,13 Proz. Acidität gefüllte Pasteur-Kolben gebracht. Dieselben blieben 8 Tage lang im Thermostaten bei 25° C stehen. Es war keine Gärung eingetreten, sämtliche Würzen reagierten alkalisch. Die Hefe war tot.

Steuber kommt nun durch seine Versuche zu dem Schluß, daß bei längerer Einwirkung der Aetzkalk imstande ist, die Hefe abzutöten. Aber nicht allein der Aetzkalk sei es, durch welchen

---

1) Meissner R., Inaug.-Diss. Erlangen 1897.

die Hefe zum Absterben gebracht wird, sondern auch die alkalisch reagierende Würze.

Bei meinen Versuchen ließ ich nicht breiigen Aetzkalk auf die Hefe einwirken, sondern Kalkwasser von bestimmtem Gehalt an Calciumhydroxyd. Die Resultate, die ich später bekanntgeben werde, bestätigen nicht vollkommen die von Steuber aufgestellte Behauptung, daß die Hefe erst in der alkalischen Würze zu Grunde ginge.

Ferner sei noch eine Arbeit von Wehmer[1]) über die Wirkung einiger Gifte auf Hefe und Gärung erwähnt. Er verglich die Wirkung von arsenigsaurem Kalium und Natrium mit der von Formalin, Sublimat, Benzoësäure und Chloroform. Zu seinen Versuchen gebrauchte er 50 ccm sterile, ungehopfte Würze (spez. Gewicht 1,0625) und 5 g Hefe; Temperatur ca. 15° C.

Er kam zu dem Schlusse, daß der Wert der arsenigsauren Salze als Gift nicht hoch zu veranschlagen sei; denn er steht weit hinter dem des Formalins und Sublimats und selbst noch hinter dem der Benzoësäure zurück. Ferner beweist er in seiner Arbeit, daß der Einfluß der Hefemenge auf die Gärfähigkeit arsenithaltiger Würzen von Bedeutung ist. Je nach der Höhe der Zellenaussaat tritt entweder gar keine, eine schwache oder selbst lebhafte Gärung ein.

Spezieller Teil.

Wie aus den oben mitgeteilten Arbeiten hervorgeht, wurde hierzu als Nährflüssigkeit stets Bierwürze, eine Flüssigkeit von wechselbarer und in vieler Hinsicht noch unbekannter Zusammensetzung verwendet, wodurch die Versuche unkontrollierbar sind.

Ferner wurde die Zellenanzahl und teilweise auch der physiologische Zustand der Hefe unberücksichtigt gelassen, welche nach meiner Ansicht aber bei derartigen Forschungen von großem Einflusse sind.

Ich habe deshalb bei der mir von Herrn Prof. Dr. Prior vorgeschlagenen, von Herrn Prof. Dr. Rees genehmigten Arbeit

1) abgezählte Zellen einer bestimmten reingezüchteten Heferasse,
2) die Hefe stets im nämlichen Vegetationszustand,
3) Nährflüssigkeiten von bestimmter und kontrollierbarer Zusammensetzung

unter gleichen Bedingungen in Bezug auf Temperatur und Zeit bei Verwendung verschiedener Giftmengen angewandt. Durch meine Versuche wollte ich entscheiden, welche Giftmengen unter den angeführten Bedingungen imstande seien,

1) die Hefe in den Zustand der Giftstarre zu versetzen,
2) ihr Vermehrungsvermögen aufzuheben,
3) ihr Gärvermögen aufzuheben,
4) die Hefe abzutöten.

---

1) Chemiker-Zeitung. 1899. No. 16.

Dabei wurden, insofern die Gifte auf Hefe in Saccharoselösung einwirkten, auch die invertierende Wirkung, bezw. der Einfluß der Gifte auf diese studiert und festgestellt.

Ich habe somit die Wirkung der Gifte auf die Gesamtarbeitsleistung der Hefe, die sich aus Vermehrung und Gärwirkung zusammensetzt, geprüft.

Es sei mir nun gestattet, im Folgenden die Ausführung meiner Arbeit eingehend zu besprechen. Bei sämtlichen Versuchen kamen Reinkulturen einer untergärigen Bierhefe vom Typus „Frohberg", die in der Sammlung der Station mit Hefe A bezeichnet ist, zur Verwendung. Das Herführen der zum Impfen notwendigen Hefe geschah in der Weise, daß einige Tropfen der angeschüttelten Ursprungshefe in ein Kölbchen mit etwa 30 ccm steriler Bierwürze gegeben wurden. Letzteres wurde in einen Thermostaten von 25° C zum Ankommen der Hefe gestellt. Zu sämtlichen Versuchen wurde nur eine junge, frisch angekommene Hefe, die nicht älter als 24 Stunden war, also immer Hefe in dem nämlichen Vegetationszustande, verwendet. Selbstverständlich geschah das Impfen der sterilen Nährflüssigkeit und das Zugeben der betreffenden Antiseptika zur Verhütung von Infektionen in einem vermittelst Sublimat ausgewaschenen Glaskasten. Wie schon oben erwähnt, wurde jedesmal in eine bestimmte Menge Nährlösung eine genau abgezählte Menge Hefezellen ausgesät und zwar kamen in dem einen Falle 20 Millionen, in dem anderen 200 Millionen Zellen auf 100 ccm Gärflüssigkeit zur Aussaat. Die Anzahl der Hefezellen wurde auf folgende Weise ermittelt: Von der frisch angekommenen Hefe, die am Boden des Kölbchens saß, wurde die Bierwürze abgegossen, einige Kubikcentimeter steriles Wasser zur Hefe hinzugegeben und geschüttelt, um letztere vom Boden des Kölbchens loszulösen. Ein anderer Kolben, in welchem sich etwa 100 ccm steriles Wasser befanden, wurde bereit gehalten und der Wattepfropfen mit einem sterilen Gummistopfen vertauscht. In diesen Kolben wurde die mit Wasser angeschüttelte Hefe gebracht und lange kräftig durchgeschüttelt, um die Sproßverbände zu lösen und die Hefezellen gleichmäßig zu verteilen. Einige mit steriler Pipette herausgenommene Kubikcentimeter wurden zum Zählen der Hefezellen verwandt, wozu ich ein Objektnetzmikrometer von Zeiss benutzte. Durch Berechnung wurden dann die Mengen hefehaltiger Flüssigkeit bestimmt, welche einem gewissen Quantum Nährflüssigkeit zuzufügen waren, um darin die gewünschte Zellenanzahl zu haben.

Nach jedem Gärversuche wurden wieder Hefezählungen in der Flüssigkeit vorgenommen, um festzustellen, ob sich die Hefe überhaupt vermehrt hatte und um wieviel.

Die von mir verwendete Nährlösung bestand aus einer 10-proz. reinen Saccharoselösung, welche mit Hefewasser von gleichem Stickstoff- und Säuregehalt versetzt worden war. Die zu den Versuchen erforderliche reine Saccharose bereitete ich durch Zählung mit Alkohol nach der von Landolt angegebenen Vorschrift, während das Hefewasser durch Auskochen von zuvor durch Abschlämmen und Auswaschen gereinigter Bierhefe mit Wasser in der

üblichen Weise hergestellt wurde. Der Stickstoffgehalt hierin wurde nach Kjeldahl und der Gehalt an flüchtigen und fixen Säuren nach Prior bestimmt. Um stets dieselbe Nährlösung zur Verfügung zu haben, wurden 100 g der reinen Saccharose in destilliertem Wasser in einem Literkolben aufgelöst, ein bestimmtes Quantum Hefewasser zugegeben, mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Von dieser Flüssigkeit wurden je 100 ccm, bei den Kalkwasserversuchen 150 ccm, in mit Wattepfropfen verschlossene, mit Gummikappe versehene Erlenmeyer-Kölbchen abpipettiert und die so beschickten Kölbchen im strömenden Wasserdampf 2 Stunden lang sterilisiert.

Der Gehalt an Rohrzucker in dem Saccharose-Hefewasser wurde
1) durch spez. Gewicht (Tabelle Windisch),
2) durch Polarisation,
3) durch Zuckerbestimmung nach Kjeldahl nach vorheriger Inversion nach Clerget festgestellt.

Die Zusammensetzung der Saccharose-Hefewasserlösung pro 100 ccm war folgende:

Spez. Gewicht 1,0394
Saccharose 9,9 g
Stickstoff 0,00896 g

Die zu den Versuchen angewandten Antiseptika waren Kalkwasser (Calciumoxyd als wirksamen Bestandteil enthaltend), arsenigsaures Natrium und Phenollösung.

Darstellung des Kalkwassers.

Eine beliebige Menge ganz reinen Ätzkalks wurde mit destilliertem Wasser gelöscht, in eine große Flasche gespült und mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Nachdem diese Mischung unter öfterem Umschütteln einen Tag lang stehen geblieben war, wurde das Kalkwasser abgegossen und filtriert. Der Gehalt an Calciumoxyd wurde acidimetrisch ermittelt. 10 ccm von dem so dargestellten Kalkwasser enthielten 0,012 g Calciumoxyd.

Darstellung der arsenigsauren Natriumlösung.

10 g reinstes arsenigsaures Natrium, bezogen von Merck in Darmstadt, wurden in 100 ccm destillierten Wassers gelöst. Die Lösung enthielt somit in 1 ccm 0,1 g arsenigsaures Natrium. Außerdem stellte ich noch eine zweite Lösung mit 0,001 g arsenigsaurem Natrium pro Kubikcentimeter dar.

Darstellung der Phenollösung.

50 g chemisch reine Karbolsäure wurden durch kräftiges Schütteln in einem Liter destillierten Wassers gelöst und der Gehalt an Phenol auf maßanalytischem Wege nach der von Hilger angegebenen Methode bestimmt. 100 ccm dieser Lösung enthielten 4,62 g Phenol.

Diese Lösungen der Antiseptika wurden mit sterilen Pipetten unter dem aussublimatisierten Glaskasten in steigenden Quantitäten dem Saccharose-Hefewasser zugesetzt, hierauf die berechnete Anzahl Hefezellen hinzugefügt und durch vorsichtiges Umschwenken in der Flüssigkeit gleichmäßig verteilt. Als Gärverschluß verwendete ich einen durchbohrten Gummistopfen mit einer zweimal knieförmig gebogenen Glasröhre, die mit einem U-förmigen, bis zu $^1/_3$ mit Wasser gefüllten Röhrchen verbunden war. Das offene Ende des letzteren wurde mit einem Wattepfropfen verschlossen, um Luftinfektion abzuhalten. Vor der Verwendung wurden die Verschlüsse mit Wasserdampf sterilisiert. Die beschickten Gärkolben blieben eine gewisse Zeit lang stehen und wurden jeden Tag mehrmals geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung der Hefezellen in der Nährlösung zu erreichen.

Die Antiseptika ließ ich einwirken auf je 200 und 2000 Zellen pro Kubikmillimeter bei Zimmertemperatur ca. 20° C. und bei Kellertemperatur von ca. 10° C.

Die bei Zimmertemperatur angestellten Versuche wurden nach 4 Tagen untersucht, die Kellerversuche nach 8 Tagen. Nur die Gärkolben, die mit Kalkwasser angesetzt waren, ließ ich länger stehen; es kamen hierbei die Zimmerversuche nach 7 Tagen und die Kellerversuche nach 14 Tagen zur Analyse.

Ausführung der Analyse der vergorenen Flüssigkeit.

Nach den für die einzelnen Versuche festgesetzten Zeiten wurde der Inhalt der Kolben quantitativ in einen Meßkolben gespült, bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und kräftig umgeschüttelt. Eine geringe Menge wurde zum Hefezählen herausgenommen, die übrige Flüssigkeit filtriert. Mit dem Filtrat wurden folgende Bestimmungen vorgenommen:

1) Polarisation,

2) Zuckerbestimmung nach Kjeldahl vor und nach der Inversion nach Clerget.

Die Hefezählung geschah mittels des obenerwähnten Objekt-Netzmikrometers. War keine oder nur eine geringe Hefevermehrung eingetreten, so wurde das Zählen der Zellen sehr erschwert, weil in diesem Falle in den Quadraten des Zählapparates nur vereinzelt die Hefezellen lagen. Um sichere Resultate zu erhalten, mußte man daher jedesmal in sämtlichen 400 Quadraten die Hefezellen abzählen.

Die Polarisation wurde in dem Halbschattenapparat von Schmidt und Haentsch ausgeführt. Aus der gefundenen Drehung ergab sich, ob und bezw. wieviel von dem ursprünglich vorhandenen Zucker invertiert resp. vergoren war. Bei den Versuchen, bei welchen nichts invertiert oder nur ganz wenig vergoren war, diente die Polarisation zur Kontrolle für die auf chemischem Wege gefundene Zuckermenge.

In den am Schlusse dieses befindlichen Tabellen I bis VIII sind die Resultate meiner Versuche zusammengestellt.

Da aus diesen Versuchen nicht ersehen werden konnte, ob die Hefe durch das Antiseptikum abgetötet war oder ob sie sich nur in der sog. Giftstarre befand, mußte ich besondere Versuche ausführen. Unter Giftstarre versteht man eine mehr oder minder lange Periode völliger Ruhe, welche dadurch hervorgerufen wird, daß die Hefe durch das Antiseptikum derartig beeinflußt ist, daß weder Vermehrung noch Gärung stattfinden kann. Die Hefe ist aber keineswegs tot; sie stirbt erst dann ab, wenn sie längere Zeit in diesem die Ernährung hindernden Zustand verweilt hat.

Die Bestimmung der Giftstarre und Abtötung der Hefe geschah in der Weise, daß ich auf 200 resp. 200 gärtüchtiger Hefezellen in bestimmten Mengen Nährflüssigkeit verschiedene Mengen der angewandten Antiseptika 24 Stunden lang einwirken ließ und nach Ablauf dieser Zeit Durchschnittsproben von 1 ccm der hefehaltigen Flüssigkeit jenen Kölbchen entnahm, in welchen weder Vermehrung noch Gärung eingetreten war. Diese wurden in kleine Gärkölbchen, in welchen sich etwa 10 ccm steriler Bierwürze befanden, übergeimpft. Die geimpften Gärkölbchen stellte ich in einen Thermostaten von 25° C und beobachtete Tag für Tag, ob Hefevermehrung und Gärung eingetreten war. Diese Beobachtungen setzte ich 10 Tage lang fort; ist nach Verlauf von 10 Tagen keine Gärung eingetreten gewesen, so war die Hefe abgetötet. Diejenigen Kölbchen, welche ankamen, hatten also Hefe im Zustande der Giftstarre, die anderen solche in abgestorbenem Zustande enthalten.

Schluß.

Zunächst möchte ich darauf aufmerksam machen, daß bei der Würdigung der von mir erhaltenen, in den Tabellen niedergelegten Zahlen die innerhalb der Fehlergrenze liegenden Zuckermengen von etwa 0,3 g pro 100 ccm dann außer Berücksichtigung zu bleiben haben, wenn z. B. die angegebenen vergorenen oder unvergorenen Zuckermengen innerhalb dieser Zahl liegen. Bevor ich zur Besprechung der in den Tabellen niedergelegten Resultate übergehe, sei noch daran erinnert, daß sich die Lebensthätigkeit der Hefe in zwei Richtungen bemerkbar macht: in der Neubildung von Zellen und der eigentlichen Gärthätigkeit. Die Gesamtarbeitsleistung der Hefe setzt sich somit aus dem Gärvermögen, d. h. dem Vermögen, Zucker und andere Nährstoffe zu spalten, neue Körper zu bilden, und dem Vermehrungsvermögen, d. h. neue Zellen hervorzubringen, zusammen. Beide Lebensfunktionen verlaufen nebeneinander; in der Regel geht jedoch, namentlich bei geringer Hefeaussaat, der zuckerspaltenden Thätigkeit eine geringe Vermehrung voraus. Erst wenn letztere stattgefunden hat, tritt bemerkbare Gärung ein. Bezüglich der Gesamtarbeitsleistung der Hefe sei noch bemerkt, daß unter Bedingungen, welche das Vermehrungsvermögen begünstigen, das Gärvermögen vermindert wird und umgekehrt. Dieses Gesetz wurde zuerst von Prior[1])

1) Prior, Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres. p. 358.

erwiesen und findet durch alle meine Versuche seine Bestätigung, da aus den Tabellen ersichtlich ist, daß je größer das Vermehrungsvermögen war, im Verhältnis weniger Zucker vergoren wurde, als bei denjenigen Versuchen, bei welchen keine oder nur eine geringe Vermehrung der Hefezellen stattgefunden hatte.

Kalkwasserversuche.

Bei Besprechung der älteren Arbeiten habe ich unter anderen auch diejenige von Steuber erwähnt, wonach die Hefe nicht allein durch den Ätzkalk zum Absterben gebracht wurde, sondern auch durch die alkalisch reagierende Würze. Bei meinen Versuchen reagierte die Nährflüssigkeit, die, wie bereits erwähnt, aus Saccharosehefewasser bestand, nach Zusatz des Kalkwassers stets alkalisch und trotzdem trat in vielen Fällen Vermehrung der Hefe und Gärung ein. Erst durch Zusatz eines bestimmten Quantums von Kalkwasser, also bei einem gewissen Kalküberschuß und einer bestimmten Alkalität der Nährlösung trat Giftstarre und erst bei weiterem Zusatz der Tod der Zellen ein.

Der Unterschied zwischen den Resultaten, welche Steuber erhielt und den meinigen dürfte auf die Verschiedenheit der Versuchsbedingungen zurückzuführen sein.

Welch großen Einfluß das Kalkwasser auf die Arbeitsleistung der Hefe ausübt, tritt bei den Zimmerversuchen ganz besonders deutlich hervor. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die beobachtete Drehung von — 3,8° resp. — 4,5° mit einem Schlag bei einem erhöhten Zusatz von 0,68 mg CaO auf + 12,8° resp. + 12,00° stieg. Mit anderen Worten: in dem einen Fall bei der minus Drehung war sämtlicher Rohrzucker in Invertzucker übergeführt, während in dem andern fast sämtlicher Rohrzucker noch vorhanden war. 0,68 mg Calciumoxyd waren also imstande, das Inversionsvermögen von 20 Mill. resp. 200 Mill. Hefezellen aufzuheben. Demgegenüber verhalten sich die Kellerversuche etwas anders. In der Kälte wirkt das Kalkwasser nicht so energisch als bei Zimmertemperatur. Wir gewahren hier nicht diesen enormen Sprung in der Abnahme der Inversion, sondern eine mehr stufenweise.

Der gebildete Invertzucker und damit das Inversionsvermögen der Hefe nimmt mit Vermehrung des Kalkwassers ab, während um so mehr Rohrzucker natürlicherweise unverändert bleibt. Das Vermehrungsvermögen der Hefe ist bei Kellertemperatur, trotzdem die Versuche die doppelte Zeit gestanden haben, bedeutend geringer, als bei der Zimmertemperatur. Zur Unterdrückung der Hefevermehrung und der Gärung war bei den Kellerversuchen weniger Kalkwasser nötig als bei den Versuchen, die bei Zimmertemperatur ausgeführt wurden.

Vergleichen wir die Versuche, welche mit 200 Zellen pro cbmm angestellt wurden, mit denjenigen mit 2000 Zellen pro cbmm, so ergiebt sich, daß schon die doppelte Menge Kalkwasser genügte, um die Vermehrung und Gärung aufzuheben. Der Zusatz des

Kalkwassers steht also nicht im Verhältnis zur Anzahl der ausgesäten Hefezelleu.

Aussaat 200 Zellen pro cbmm. — Zimmertemperatur.

Auf 1 Million Zellen wirken mg Calciumoxyd	0,243	0,313	0,347	0,381	0,414	
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	6,19	6,69	7,12	6,11	—	
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,7	1,47	1,07	—	—	
Vermehrung	79	73	68,5	1,7	—	

Aussaat 200 Zellen pro cbmm. — Kellertemperatur.

Auf 1 Million Zellen wirken mg Calciumoxyd	0,207	0,243	0,278	0,313	0,347	0,381
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	17,87	25,00	44,79	44,25	37,5	11,5
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,61	2,31	5,63	—	—	—
Vermehrung	27	16	4,8	2	—	—

Aussaat 2000 Zellen pro cbmm. — Zimmertemperatur.

Auf 1 Million Zellen wirken mg Calciumoxyd	0,057	0,067	0,070	0,073	0,076	
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	6,83	7,73	4,25	2,7	1,75	
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	2,34	2,34	2,00	2,2	—	
Vermehrung	6,25	5,4	—	—	—	

Aussaat 2000 Zellen pro cbmm. — Kellertemperatur.

Auf 1 Million Zellen wirken mg Calciumoxyd	0,061	0,064	0,067	0,070	0,073	0,076
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker intervertiert	12,38	11,89	8,25	4,85	1,35	—
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,14	0,71	2,00	—	—	—
Vermehrung	4	2,8	—	—	—	—

Aus den vorstehenden Tabellen geht hervor, daß durch Zusatz einer gewissen Menge Kalk das Inversionsvermögen der Hefe gesteigert wird. Dieses nimmt mit steigender Kalkmenge bis zu einem gewissen Grade zu. Erst dann, wenn diese Menge überschritten ist, vermindert sich das Inversionsvermögen und damit auch die Bildung von Invertzucker. Ganz besonders tritt dies bei den Kellerversuchen hervor. Hier nimmt das Inversionsvermögen um ein ganz Beträchtliches zu gegenüber den Zimmerversuchen, ein

Beweis, daß niedere Temperatur und relativ geringe Kalkmengen die Umstände sind, welche das Inversionsvermögen begünstigen. Die für die Inversion angeführten Verhältnisse gelten im allgemeinen auch für die Menge des vergorenen Rohrzuckers. Ziehen wir die Vermehrung der Zellen mit in Betracht, so sehen wir, daß die Vermehrung bei geringer Zellaussaat größer, in den Versuchen mit 2000 Zellen geringer ist und durch kleine Kalkmengen ganz aufgehoben wird. Aus der folgenden Tabelle ist die Menge Kalk ersichtlich, welche die einzelnen Lebensfunktionen der Hefe innerhalb 24 Stunden aufzuheben, Giftstarre und schließlich den Tod zu bewirken vermögen. Die Tabelle zeigt auch, daß das Antiseptikum erst nach und nach die Hefe zum Absterben bringt.

Aussaat pro cbmm	200 Zellen	200 Zellen	2000 Zellen	2000 Zellen
Temperatur	Zimmer-	Keller-	Zimmer-	Keller-
	mg CaO	mg CaO	mg CaO	mg CaO
hört Vermehrung auf	7,61	6,25	13,09	13,31
hört Gärung auf	6,93	5,56	15,09	13,9
hört Inversion auf	7,61	7,61	15,09	13,9
tritt Giftstarre ein	8,27	7,61	15,09	13,9
Hefe abgetötet	10,85	10,22	17,36	15,9

Versuche mit arsenigsaurem Natrium.

Bei Betrachtung der Tabellen, welche die Resultate bei Zimmertemperatur angeben, sehen wir vieles analog den Versuchen mit Kalkwasser verlaufen. Die Einwirkung des arsenigsauren Natriums tritt auch hier, wie bei den Kalkwasserversuchen, mit einem Mal ganz bedeutend hervor. So haben wir bei Einwirkung von 0,01 g des Giftes noch eine Minusdrehung von — 2,84°. Bei einem weiteren Zusatz von nur 0,01 g beobachten wir aber noch eine Plusdrehung von + 11,4°. Oder wenn wir den gebildeten Invertzucker ins Auge fassen, so wurden bei dem Versuch mit 0,01 g 8,43 g Invertzucker durch die Hefe produziert, währenddem nur 0,71 g von dem ursprünglichen Rohrzucker noch vorhanden waren. Der weitere Zusatz von 0,01 g arsenigsaurem Natrium beeinflußte die Hefe in dem Maße, daß wir nur 0,75 g Invertzucker hatten, und 8,38 g von dem angewandten Rohzucker unverändert geblieben waren. Diese angegebenen Zahlen beziehen sich auf die Versuche, bei welchen 200 Zellen pro cbmm ausgesät wurden. Wir treffen aber auch die gleichen Resultate bei der Aussaat mit 2000 Zellen pro cbmm an. Vergleichen wir nun die Versuche, die bei Zimmertemperatur ausgeführt wurden, mit denen bei Kellertemperatur, so finden wir, daß bei letzteren eine weitaus geringere Menge des Antiseptikums nötig war, um das Vermehrungsvermögen und das Gärvermögen aufzuheben, obgleich die Kellerversuche erst nach der doppelten Zeit als die Zimmerversuche analysiert wurden. Bei

den Versuchen mit arsenigsaurem Natrium und bei denjenigen mit Phenol wurden die Versuche bei Zimmertemperatur nach 4 Tagen, die bei Kellertemperatur nach 8 Tagen untersucht.

Aussaat 200 Zellen pro cbmm. — Zimmertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirk. mg Na_3AsO_3	0,5	1,00	1,5	2,00	2,5
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	5,74	38,00	19,33	14,5	—
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,74	20,5	10,00	—	—
Vermehrung	80	2	1,5	—	—

Aussaat 200 Zellen pro cbmm. — Kellertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirk. mg Na_3AsO_3	0,005	0,025	0,0375	0,05	0,25	0,375	0,5	1,0	1,0	2,00
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	66,67	82,2	133,0	162,5	129,0	111,0	101,00	41,00	26,5	—
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	7,42	9,6	16,0	22,0	19,5	20,00	21,5	—	—	—
Vermehrung	3,3	2,5	1,8	—	—	—	—	—	—	—

Aussaat 2000 Zellen pro cbmm. — Zimmertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirk. mg Na_3AsO_3	0,5	0,75	1,00	1,25	1,5	1,75	2,00
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	15,87	16,5	21,22	2,7	2,7	2,0	—
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,85	1,00	—	—	—	—	—
Vermehrung	3,12	3	—	—	—	—	—

Aussaat 2000 Zellen pro cbmm. — Kellertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirk. mg Na_3AsO_3	0,005	0,025	0,0375	0,05	0,25	0,375	0,5	0,75	1,00
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	7,73	10,31	12,15	34,32	38,3	22,2	15,0	2,4	—
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,86	1,16	0,44	1,43	2,00	—	—	—	—
Vermehrung	6,4	4,8	4,0	1,4	—	—	—	—	—

Vorstehende Tabellen zeigen uns ebenfalls recht deutlich, daß das Inversionsvermögen und das Gärvermögen durch den Zusatz von geringen Mengen arsenigsauren Natriums bis zu einem ge-

wissen Grad gesteigert wird. Hauptsächlich bei den beiden Kellerversuchen wird die Hefe durch eine gewisse Menge Natriumarsenit zur Inversion ganz enorm angereizt.

Was den vergorenen Rohrzucker im Vergleich zur Vermehrung der Hefezellen betrifft, so können wir aus den oben angeführten Tabellen ersehen, daß, je größer die Vermehrung ist, um so weniger Rohrzucker vergoren wird. Es kommt hier immer wieder das von Prior aufgestellte Gesetz zum Ausdruck. Die folgende Tabelle giebt uns über die Einwirkung des Giftes auf die Hefe bei verschiedener Aussaat und verschiedener Temperatur genauen Aufschluß.

Aussaat pro cbmm	200 Zellen	200 Zellen	2000 Zellen	2000 Zellen
Temperatur	Zimmer-	Keller-	Zimmer-	Keller-
	g Na_3AsO_3	g Na_3AsO_3	g Na_3AsO_3	g Na_3AsO_3
hört Vermehrung auf	0,03	0,00075	0,2	0,01
hört Gärung auf	0,03	0,01	0,25	0,075
hört Inversion auf	0,03	0,01	0,25	0,2
tritt Giftstarre ein	0,03	0,02	0,30	0,2
Hefe abgetötet	0,04	0,03	0,35	0,2

Phenolversuche.

Bei den Versuchen mit Phenol beobachteten wir ähnliche Erscheinungen, wie bei den Versuchen mit Kalkwasser und arsenigsaurem Natrium, wie die nachstehenden Tabellen beweisen. Da ich bei den beiden vorhergehenden Versuchen alles, was auch hier zu erwähnen wäre, eingehend besprochen habe, so genügt es in der Hauptsache, auf die nachfolgenden Tabellen zu verweisen.

(Siehe Tabelle p. 18.)

Bei den Versuchen mit Phenol erschien mir besonders auffällig, daß die Hefe, obgleich sie durch das Phenol abgetötet war, trotzdem noch starkes Inversionsvermögen zeigte. Im Anfang war ich der Meinung, daß die invertierende Wirkung nicht von der Hefe ausginge, sondern vom Karbolwasser selbst. Um hierüber Gewißheit zu erlangen, stellte ich folgenden Versuch an: Ich gab zu einem bestimmten Quantum Saccharose-Hefewasser etwa 30 ccm Phenollösung, bestimmte durch Polarisation die Drehung und ließ jene Mischung ebenfalls 4 Tage stehen. Nach Ablauf jener Zeit war die Drehung unverändert. Es war somit der Beweis geliefert, daß das Karbolwasser in keiner Weise auf den in der Nährlösung vorhandenen Rohrzucker eine Einwirkung ausübte. Die Inversion konnte also nur von der Hefe selbst ausgehen.

Da die Hefe durch das Phenol sich gewissermaßen in einem krankhaften Zustand befindet, und nach Sullivan nur aus der toten Zelle Invertin zu diffundieren vermag, habe ich folgenden Versuch angestellt. Zu 100 ccm Wasser gab ich etwa 30 ccm Karbolwasser und eine ziemliche Menge junge, gärkräftige Hefe.

Aussaat 200 Zellen pro cbmm. — Zimmertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirken mg Phenol	0,23	1,15	2,3	3,45	4,6	5,75	6,9	9,2	13,8	18,4	23,00	115
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	5,31	6,16	8,22	9,88	18,00	222,00	222,0	183,0	173,5	153,5	103,5	87
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,67	0,69	0,91	0,91	1,46	33,00	33,00	22,5	20,00	16,5	18,00	–
Vermehrung	92,8	80	60	48	25	—	—	—	—	—	—	–

Aussaat 200 Zellen pro cbmm. — Kellertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirken mg Phenol	0,23	2,3	3,45	4,6	13,8	23,00						
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	15,32	25,88	58,75	150,0	98,5	93,5						
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,88	1,53	5,0	—	—	—						
Vermehrung	28	16	4	—	—	—						

Aussaat 2000 Zellen pro cbmm. — Zimmertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirken mg Phenol	0,23	0,46	0,58	0,69	0,81	0,92	1,15	1,61	3,22	6,9		
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	7,9	12,33	17,61	20,00	46,95	46,95	44,95	44,95	43,4	43,4		
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,19	1,61	2,30	1,9	2,65	2,00	—	—	—	—		
Vermehrung	6,24	4	2,8	2,4	—	—	—	—	—	—		

Aussaat 2000 Zellen pro cbmm. — Kellertemperatur.

Auf 1 Mill. Zellen wirken mg Phenol	0,46	0,92	2,3	4,6	6,9							
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	16,43	46,75	45,65	43,35	40,25							
1 Mill. Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,87	2,55	—	—	—							
Vermehrung	3	—	—	—	—							

Aussaat pro cbmm	200 Zellen	200 Zellen	2000 Zellen	2000 Zellen
Temperatur	Zimmer-	Keller-	Zimmer-	Keller-
	g Phenol	g Phenol	g Phenol	g Phenol
hört Vermehrung auf	0,115	0,092	0,161	0,138
hört Gärung auf	0,276	0,092	0,230	0,184
hört Inversion auf	—	—	—	—
tritt Giftstarre ein	0,276	0,092	0,322	0,184
Hefe abgetötet	0,46	0,184	0,552	0,414

wie ich dieselbe bei allen Versuchen angewandt hatte. In einem anderen Kolben befand sich Hefe und Wasser ohne Phenolzusatz. Diese beiden Flüssigkeiten ließ ich 4 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde jede derselben durch ein sterilisiertes Chamberland-Flter filtriert, um die Flüssigkeit zellfrei zu erhalten. 25 ccm dieses Filtrats wurden zu einer sterilen Rohrzuckerlösung gegeben und in ein Wasserbad von 50° C gestellt, um die Inversion zu beschleunigen. Nach 2-stündiger Einwirkung war keine Drehungsverminderung zu beobachten. Ich ließ deshalb die Inversion noch weitere 24 Stunden im Gang. Aber auch nach dieser Zeit zeigte die Rohrzuckerlösung dieselbe Drehung wie am Anfang des Versuches. Der Kontrollversuch wurde in gleicher Weise durchgeführt. Auch bei ihm war keine Aenderung der Drehung zu beobachten. Diese Versuche zeigen, daß die Hefe auf Zusatz von Phenol kein Invertin an Wasser abgiebt, es sei denn, das Filter hielte das Invertin zurück.

Da aber trotzdem starke Inversion eintrat, wenn sich Hefe, Phenol, Saccharose- und Hefewasser in einer Flüssigkeit befanden, versetzte ich 100 ccm Saccharose-Hefewasser mit 30 ccm Karbolwasser und 200 Millionen Hefezellen. Nach 4 Tagen filtrierte ich diese Flüssigkeit durch ein steriles Chamberland-Filter. Von diesem Filtrat nahm ich 50 ccm, die ich mit 50 ccm steriler 10-proz. Saccharoselösung vermischte. Ich bestimmte alsdann durch Polarisation die Drehung dieses Gemisches, welche $+5^{0}55'$ betrug. Nach 4 Tagen war sie $+5^{0}30'$, nach 8 Tagen $+5^{0}$ und nach 14 Tagen $+3^{0}40'$. Somit hatte ich den Beweis geliefert, daß in dem Filtrat sich Invertin befand, das den Rohrzucker zum Teil in Invertzucker übergeführt hat.

Es tritt somit nur bei Gegenwert von Saccharose Invertin, wahrscheinlich infolge der durch Diffusion der Saccharose in das Zellinnere bewirken Aenderungen im osmotischen Druck, aus der Hefezelle aus, wobei es gleichgiltig zu sein scheint, ob die Zelle lebt oder abgestorben ist.

Tabelle I. **Kalkwasser-Versuche.**

Zimmertemperatur.

	200 Zellen pro cbmm.					2000 Zellen pro cbmm.				
Kalkwasser-Zusatz auf 150 ccm Saccharose-Hefewasser	10,00 ccm	12,00	13,00	14,00	15,00	20,00	23,00	24,00	25,00	26,00
Gehalt an CaO in 100 ccm	7,5 mg	8,89	9,57	10,25	10,91	14,12	15,95	16,54	17,14	17,73
Erforderliches CaO zur Neutralisation von 100 ccm Saccharose-Hefewasser	2,64 mg	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64
Auf die Hefe einwirkendes CaO	4,86 mg	6,25	6,93	7,61	8,27	11,48	13,31	13,90	14,50	15,09
In 100 ccm										
Rohrzucker vor der Gärung	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
Drehung	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17
Temperatur	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C
Gärdauer	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage	7 Tage
Invertzucker	7,56	8,14	8,85	—	—	6,84	7,26	0,47	0,11	—
Rohrzucker vorhanden	—	—	—	9,57	9,78	—	—	9,05	9,36	9,55
„ vergoren	2,72	2,17	1,49	0,33	—	3,4	3,00	0,4	0,44	0,35
„ % vergoren	27,47	21,92	15,05	3,33	—	34,34	30,30	4,04	4,44	3,54
„ invertiert	9,9	9,9	9,9	0,33	—	9,9	9,9	0,85	0,54	0,35
„ % invertiert	100	100	100	3,33	—	100	100	8,59	5,45	3,54
Beobachtete Drehung	−4,4	−4,00	−3,8	+12,8	+13,00	−4,5	−4,5	+12,00	+12,5	+13,00
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	—	—	—	+12,73	+13,03	—	—	+12,04	+12,45	+12,70
Aussaat.										
Zellen vor der Gärung	200	200	200	200	200	2000	2000	2000	2000	2000
Zellen nach der Gärung	16 000	14 800	13 900	540	200	14 500	12 800	2000	2000	2000
Vermehrung	79	73	68,5	1,7	—	6,25	5,4	—	—	—
Auf 1 Million Zellen wirken mg CaO	0,243	0,313	0,347	0,381	0,414	0,057	0,067	0,070	0,073	0,076
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	6,19	6,69	7,12	6,11	—	6,83	7,73	4,25	2,7	—
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,7	1,47	1,07	—	—	2,34	2,34	2,00	—	—

Tabelle II. **Kalkwasser-Versuche.**

Kellertemperatur.

	200 Zellen pro cbmm.						2000 Zellen pro cbmm.					
Kalkwasser-Zusatz auf 150 ccm Saccharose-Hefewasser	9,00 ccm	10,00	11,00	12,00	13,00	14,00	21,00	22,00	23,00	24,00	25,00	26,00
Gehalt an CaO in 100 ccm	6,78 mg	7,5	8,2	8,89	9,57	10,25	14,74	15,35	15,95	16,54	17,14	17,73
Erforderliches CaO zur Neutralisation von 100 ccm Saccharose-Hefewasser	2,64 mg	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64	2,64
Auf die Hefe einwirkendes CaO	4,14 mg	4,86	5,56	6,25	6,93	7,61	12,10	12,71	13,31	13,90	14,50	15,09
In 100 ccm												
Rohrzucker vor der Gärung	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
Drehung	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17
Temperatur	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C
Gärdauer	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage	14 Tage
Invertzucker	9,25	7,64	3,96	1,54	0,47	—	9,46	6,59	1,32	0,7	—	—
Rohrzucker vorhanden	0,25	1,90	5,6	8,13	9,15	9,67	—	3,24	8,25	8,93	9,63	9,72
„ vergoren	0,87	0,74	0,54	0,3	0,3	—	0,91	0,4	0,4	0,3	0,27	—
„ Proz. vergoren	8,79	7,47	5,45	3,33	3,33	—	9,19	4,04	4,04	3,03	2,72	—
„ invertiert	9,65	8,00	4,3	1,77	0,75	—	9,9	6,66	1,65	0,97	0,27	—
„ Proz. invertiert	97,47	80,81	43,43	17,88	7,58	—	100	67,27	16,67	9,80	2,72	—
Beobachtete Drehung	−3,6	−0,16	+6,66	+11,00	+12,5	+13,00	−4,00	+2,00	+11,5	+12,4	+12,7	+13,00
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+0,33	+2,53	+7,45	+10,81	+12,17	+12,86	—	+4,31	+10,97	+11,88	+12,8	+12,92
Aussaat.												
Zellen vor der Gärung	200	200	200	200	200	200	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Zellen nach der Gärung	5400	3200	960	400	200	200	8000	5600	2000	2000	2000	2000
Vermehrung	27	16	4,8	2	—	—	4	2,8	—	—	—	—
Auf 1 Million Zellen wirken mg CaO	0,207	0,243	0,278	0,313	0,347	0,381	0,061	0,064	0,067	0,070	0,073	0,076
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	17,87	25,00	44,79	44,25	37,5	—	12,38	11,89	8,25	4,85	1,35	—
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,61	2,31	5,63	—	—	—	1,14	0,71	2,00	—	—	—

Tabelle III. **Versuche mit arsenigsaurem Natrium Na_3AsO_3.**

Zimmertemperatur.

	200 Zellen pro cbmm.						2000 Zellen pro cbmm.							
Zusatz von arsenigsaurer Natriumlös. auf 100 ccm Saccharose-Hefewasser	0,1 ccm	0,2	0,3	0,4	0,5	1,00	1,00	1,5	2,00	2,5	3,00	3,5	4,00	5,00
Gehalt an arsenigsaurem Natrium	0,01 g	0,02	0,03	0,04	0,05	0,1	0,1	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,4	0,5
Rohrzucker vor d. Gärung	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
Drehung	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,7	+13,17	+13,17°	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17
Temperatur	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C
Gärdauer	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage
Invertzucker	8,43	0,75	0,31	—	—	—	9,86	9,78	8,04	0,28	0,28	0,24	—	—
Rohrzucker vorhanden	0,71	8,38	9,32	9,61	9,8	9,8	—	—	2,33	9,36	9,36	9,51	9,82	9,82
„ vergoren	1,18	0,81	0,3	0,29	—	—	0,53	0,6	—	0,27	0,27	0,17	—	—
„ % vergoren	11,92	8,18	3,03	2,93	—	—	5,35	6,06	—	2,73	2,73	1,72	—	—
„ invertiert	9,19	1,52	0,58	0,29	—	—	9,9	9,9	7,64	0,54	0,54	0,4	—	—
„ % invertiert	92,83	15,35	5,9	2,93	—	—	100	100	77,17	5,45	5,45	4,1	—	—
Beobachtete Drehung	- 2,84	+ 11,4	+ 12,34	+ 12,84	+ 13,00°	+ 13,00	— 4,00°	— 3,8	— 0,83	+ 12,6	+ 12,6	+ 12,74	+ 13,1	+ 13,1
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers.	+ 0,94	+ 11,15	+ 12,4	+ 12,78	+ 13,03	+ 13,03	—	—	+ 3,1	+ 12,45	+ 12,45	+ 12,65	+ 13,06	+ 13,06
Aussaat.														
Zellen vor der Gärung	200	200	200	200	200	200	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Zellen nach der Gärung	16 000	400	300	200	200	200	6240	6000	3600	2000	2000	2000	2000	2000
Vermehrung	80	2	1,5	—	—	—	3,12	3,00	1,8	—	—	—	—	—
Auf 1 Mill. Zellen wirken Na_3AsO_3 mg	0,5	1,00	1,5	2,00	2,5	5,00	0,5	0,75	1,00	1,25	1,5	1,75	2,00	2,5
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invert.	5,74	38,00	19,33	14,5	—	—	15,87	16,5	21,22	2,7	2,7	2,0	—	—
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergor.	0,74	20,5	10,00	—	—	—	0,85	1,00	—	—	—	—	—	—

Tabelle IV. **Versuche mit arsenigsaurem Natrium $Na_3 AsO_3$.**

Kellertemperatur.

200 Zellen pro cbmm.

Zusatz von arsenigsaurer Natriumlösung auf 100 ccm Saccharose-Hefewasser							0,1 ccm	0,2	0,3	0,4
Gehalt an arsenigsaurem Natrium	0,0001 g	0,0005	0,00075	0,001	0,005	0,0075	0,01	0,02	0,03	0,04
Rohrzucker vor der Gärung	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
Drehung	+ 13,17°	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17	+ 13,17
Temperatur	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C
Gärdauer	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage
Invertzucker	4,12	3,82	3,69	2,96	2,3	1,92	1,67	0,58	0,27	—
Rohrzucker vorhanden	5,5	5,79	5,91	6,65	7,32	7,68	7,88	9,08	9,37	9,71
„ vergoren	0,49	0,48	0,48	0,44	0,39	0,4	0,43	0,27	0,27	—
„ % vergoren	4,95	4,85	4,85	4,44	3,94	4,44	4,34	2,73	2,73	—
„ invertiert	4,4	4,11	3,99	3,25	2,58	2,22	2,02	0,82	0,53	—
„ % invertiert	44,44	41,52	40,30	32,83	26,06	22,42	20,40	8,28	5,35	—
Beobachtete Drehung	+ 6,5°	+ 7,00	+ 7,4	+ 8,1	+ 9,1	+ 9,84	+ 10,6	+ 12,00	+ 12,6	+ 13,00
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+ 7,32	+ 7,7	+ 7,86	+ 8,84	+ 9,74	+ 10,21	+ 10,48	+ 12,08	+ 12,46	+ 12,91
Aussaat.										
Zellen vor der Gärung	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Zellen nach der Gärung	660	500	300	200	200	200	200	200	200	200
Vermehruug	3,3	2,5	1,8	—	—	—	—	—	—	—
Auf 1 Million Zellen wirken mg $Na_3 AsO_3$	0,005	0,025	0,0375	0,05	0,25	0,375	0,5	1,00	1,5	2,00
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	66,67	82,2	133,0	162,5	129,0	111,0	101,0	41,0	26,5	—
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	7,42	9,6	16,0	22,0	19,5	20,0	21,5	13,5	—	—

Tabelle V. **Versuche mit arsenigsaurem Natrium Na^3AsO_3.**

Kellertemperatur.

2000 Zellen pro cbmm.

Zusatz von arsenigsauerer Natriumlös. auf 100 ccm Saccharose-Hefewasser				0,1 ccm	0,5	0,75	1,00	1,5	2,00	2,5	3,00	3,5	4,00
Gehalt an arsenigsauerem Natrium	0,001 g	0,005	0,0075	0,01	0,05	0,075	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4
Rohrzucker vor d. Gärung	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
Drehung	+13,17°	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17	+13,17
Temperatur	10° C	10° C	10° C	10° C	10 C°	10° C	10° C	10° C	10° C	16° C	10° C	10° C	10° C
Gärdauer	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage
Invertzucker	9,25	9,25	9,86	9,69	7,64	4,57	3,26	0,65	0,37	0,37	0,37	—	—
Rohrzucker vorhanden	—	—	0,18	0,29	2,24	5,46	6,90	9,42	9,69	9,69	9,69	9,71	9,81
„ vergoren	1,11	1,11	0,35	0,4	0,4	0,1	—	—	—	—	—	—	—
„ % vergoren	11,21	11,21	3,53	4,04	4,04	1,01	—	—	—	—	—	—	—
„ invertiert	9,9	9,9	9,72	9,61	7,66	4,44	3,00	0,48	0,21	0,21	0,21	—	—
„ % invertiert	100	100	98,18	97,07	77,37	44,85	30,30	4,85	2,12	2,12	2,12	—	—
Beobachtete Drehung	−4,34°	−4,18	−3,86	−3,44	+0,2	+5,66	+7,4	+12,1	+12,5	+12,5	+12,5	+12,9	+13,00
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	—	-	+0,24	+0,39	+2,89	+7,26	9,18	+12,53	+12,9	+12,9	+12,9	+12,91	+13,05
Aussaat.													
Zellen vor der Gärung	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Zellen nach der Gärung	12 800	9600	8000	2800	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Vermehrung	6,4	4,8	4,0	1,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Auf 1 Mill. Zellen wirken mg Na_3AsO_3	0,005	0,025	0,0375	0,05	0,25	0,375	0,5	0,75	1,00	1,25	1,5	1,75	2,00
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	7,73	10,31	12,15	34,32	38,3	22,2	15,0	2,4	1,05	1,05	1,05	—	—
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,86	1,16	0,44	1,43	2,00	—	—	-	—	-	—	-	—

Tabelle VI. **Versuche mit Phenol.**

Zimmertemperatur.

200 Zellen pro cbmm.

Zusatz von Phenollösung (4,6 : 100) auf 100 ccm Saccharose Hefewasser	0,1 ccm	0,5	1,00	1,5	2,00	2,5	3,00	4,00	6,00	8,00	10,00	50,00
g Phenol	0,0046	0,023	0,046	0,069	0,092	0,115	0,138	0,184	0,276	0,368	0,46	2,30
Rohrzucker vor der Gärung	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86
Drehung	+ 13,11°	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11	+ 13,11
Temperatur	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C
Gärdauer	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage
Invertzucker	9,06	9,16	9,16	9,06	8,70	3,98	3,98	3,38	3,23	2,88	1,8	1,59
Rohrzucker vorhanden	—	—	—	0,38	0,86	5,42	5,42	6,2	6,39	6,79	7,79	8,12
„ vergoren	1,25	1,10	1,10	0,87	0,73	0,66	0,66	0,45	0,4	0,33	0,36	0,23
„ % vergoren	12,68	11,16	11,16	8,82	7,40	6,69	6,69	4,56	4,06	3,35	3,65	2,23
„ invertiert	9,86	9,86	9,86	9,48	9,00	4,44	4,44	3,66	3,47	3,07	2,07	1,74
„ % invertiert	100	100	100	96,15	91,28	45,03	45,03	37,12	35,19	31,14	21,00	17,65
Beobachtete Drehung	— 4.4°	— 4,34	— 4,34	— 3,86	— 2,00	+ 6,5	+ 6,5	+ 7,84	+ 8,26	+ 8,72	+ 10,00	+ 10,5
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	—	—	—	+ 0,51	+ 1,04	+ 7,21	+ 7,21	+ 8,25	+ 8,5	+ 8,99	+ 10,36	+ 10,8
Aussaat.												
Zellen vor der Gärung	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Zellen nach der Gärung	18560	16000	12000	9600	5000	200	200	200	200	200	200	200
Vermehrung	92,8	80	60	48	25	—	—	—	—	—	—	—
Auf 1 Million Zellen wirken mg Phenol	0,23	1,15	2,3	3,45	4,6	5,75	6,9	9,2	13,8	18,4	23,00	115,0
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	5,31	6,16	8,22	9,88	18,00	222,00	222,00	183,0	173,5	153,5	103,5	87,0
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	0,67	0,69	0,91	0,91	1,46	33,00	33,00	22,5	20,0	16,5	18,00	—

Tabelle VII. **Versuche mit Phenol.**

Zimmertemperatur.

2000 Zellen pro cbmm.

Zusatz von Phenol-Lösung (4,6 : 100) auf 100 ccm Saccharose-Hefewasser.	1,00 ccm	2,00	2,5	3,00	3,5	4,00	5,00	7,00	14,00	30,00
g Phenol	0,046	0,092	0,115	0,138	0,161	0,184	0,230	0,322	0,644	1,38
Rohrzucker vor der Gärung	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86
Drehung	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11
Temperatur	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C	20° C
Gärdauer	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage	4 Tage
Invertzucker	8,70	9,02	9,02	9,16	9,33	9,4	9,2	9,06	8,94	8,94
Rohrzucker vorhanden	—	—	—	0,25	0,47	0,53	0,87	1,03	1,18	1,18
„ vergoren	1,59	1,29	1,29	0,91	0,53	0,4	0,29	0,22	0,19	0,19
„ % vergoren	16,13	13,08	13,08	9,23	5,38	4,01	2,94	2,23	1,93	1,93
„ invertiert	9,86	9,86	9,86	9,61	9,39	9,33	8,99	8,83	8,68	8,68
„ % invertiert	100	100	100	97,46	95,23	94,62	91,17	89,55	88,03	88,03
Beobachtete Drehung	—4,6	—4,34	—4,34	—4,34	—3,6	—3,5	—,32	—2,5	—2,26	—2,26
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	—	—	—	+0,33	+0,63	+1,07	+1,16	+1,37	+1,57	+1,57
Aussaat										
Zellen vor der Gärung	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Zellen nach der Gärung	12 480	8000	5600	4800	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Vermehrung	6,24	4,00	2,8	2,4	—	—	—	—	—	—
Auf 1 Million Zellen wirken mg Phenol	0,23	0,46	0,58	0,69	0,81	0,92	1,15	1,61	3,22	6,9
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	7,90	12,33	17,61	20,0	46,95	46,65	44,95	44,15	43,4	43,4
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren	1,19	1,61	2,30	1,9	2,65	2,00	1,45	—	—	—

Tabelle VIII. **Versuche mit Phenol.**

Kellertemperatur.

	200 Zellen pr. cbmm.						2000 Zellen pr. cbmm.				
Zusatz von Phenol-Lösung (4,6:100) auf 100 ccm Saccharose-Hefewasser	0,1 ccm	1,00	1,5	2,00	6,00	10,00	2,00	4,00	10,00	20,00	30,00
g Phenol	0,0046	0,046	0,069	0,092	0,276	0,46	0,092	0,184	0,46	0,92	1,38
Rohrzucker vor der Gärung	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86	9,86
Drehung	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11	+13,11
Temperatur	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C	10° C
Gärdauer	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage	8 Tage
Invertzucker	8,63	8,2	4,53	2,88	1,79	1,69	9,2	9,78	9,33	8,85	8,3
Rohrzucker vorhanden	1,17	1,58	5,16	6,86	7,89	7,99	—	0,51	0,73	1,19	1,81
„ vergoren	0,49	0,49	0,40	0,26	0,27	0,27	1,12	0,06	0,27	0,26	0,16
„ Proz. vergoren	4,97	4,97	4,06	2,64	2,74	2,74	11,36	0,61	2,74	2,64	1,72
„ invertiert	8,69	8,28	4,70	3,00	1,97	1,87	9,86	9,35	9,13	8,67	8,05
„ Proz. invertiert	88,13	83,98	47,78	30,42	19,98	18,97	100	94,82	92,6	87,93	81,64
Beobachtete Drehung	—1,66	—0,86	+6,34	+8,20	+10,00	+10,34	—4,2	—3,6	—2,8	—1,8	—1,00
Drehung des vorhandenen Rohrzuckers	+1,56	+2,10	+6,86	+9,12	+10,49	+10,63	—	+0,68	+0,97	+1,58	+2,41
Aussaat.											
Zellen vor der Gärung	200	200	200	200	200	200	2000	2000	2000	2000	2000
Zellen nach der Gärung	5600	3200	800	200	200	200	6000	2000	2000	2000	2000
Vermehrung	28	16	4	—	—	—	3	—	—	—	
Auf 1 Million Zellen wirken mg Phenol	0,23	2,3	3,45	4,6	13,8	23,0	0,46	0,92	2,30	4,6	6,9
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker invertiert	15,52	25,88	58,75	150,0	98,5	93,5	16,43	46,75	45,65	43,35	40,25
1 Million Zellen haben mg Rohrzucker vergoren.	0,88	1,53	5,0	—	—	—	1,87	2,55	—	—	—

Curriculum vitae.

Ich, Christian Knoesel, geb. zu Nürnberg als Sohn des verstorbenen Brauereidirektors Georg Knoesel und seiner verstorbenen Gattin Babette Knoesel geb. Dietrich, prot. Konfession, widmete mich nach Absolvierung des kgl. Lyceums zu Oehringen der Pharmacie. Nach zurückgelegter Konditionszeit bezog ich die Universität München, woselbst ich auch die pharmazeutische Approbationsprüfung machte. Behufs Erlangung der phil. Doktorwürde setzte ich meine Studien an der Universität Erlangen fort und bearbeitete auf Veranlassung meines hochverehrten Lehrers, des Herrn Prof. Rees, vorliegendes Thema.

An dieser Stelle sei mir gestattet sowohl Herrn Prof. Dr. Prior als auch seinem Laboratoriumsvorstand, Herrn Dr. Wiegmann, meinen besten Dank auszusprechen für ihren gütigen Rat, den sie mir während der Ausarbeitung haben zu Teil werden lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.